Bacteriologische und chemische Untersuchungen

über die

schleimige Gährung.

*

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

bei der

hohen philosophischen Fakultät der Universität Basel

eingereicht

von

Carl Otto Happ

aus Mayen.

BERLIN.

Buchdruckerei Gustav Schenck, Königl. Hofbuchhändler.

1893.

Seiner theuren Mutter

in Liebe und Dankbarkeit

gewidmet

vom

Verfasser.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543921_0131

Es sei mir an dieser Stelle gestattet, Herrn Dr. Ed. Ritsert, auf dessen Anregung ich die vorliegende Arbeit begonnen habe, und der mich durch freundliche Rathschläge stets unterstützte, und Herrn Dr. J. Stahl, unter dessen Leitung die Arbeit zu Ende geführt wurde, und der mir bei derselben ebenfalls seinen werthvollen Beistand und Rath zu Theil werden liess, meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Inhalts-Verzeichniss.

Seite

Einleitung und Litteratur-Angaben 9

I. Bakteriologischer Theil:

Reinzüchtung der schleimerregenden Bakterien 24

Vorkommen der Bakterien 26

Beschreibung der Bakterien 28

Versuche, welcher Zuckergehalt und welche Zusätze für die schleimige Gährung am günstigsten sind 34

Untersuchungen über die Entstehung des Schleimes 39

II. Chemischer Theil 43

Schlussbetrachtung 51

Resultate 52

Bakteriologische und chemische Untersuchungen über die schleimige Gährung.

Eine bekannte Erscheinung bei zuckerhaltigen Pflanzensäften, wie Möhren-, Zwiebel- und Runkelrübensaft, ferner bei Aufgüssen von Malz, Gerste, Reis etc., bei Wein, Bier und Milch, auch bei Lösungen von gewönlichem Rohrzucker und anderen Zuckerarten ist das Schleimigwerden derselben. Diese Veränderung wird bewirkt durch eine besondere Art von Gährung, die sog. schleimige Gährung, die durch Microorganismen hervorgerufen wird.

Da in vorliegender Arbeit an erster Stelle die bakteriologische Untersuchung über schleimige Gährung zuckerhaltiger Flüssigkeiten besprochen wird, so soll auch das bis jetzt in bakteriologischer Beziehung darüber Bekannte zuerst erwähnt werden.

Pasteur[1]) berichtet zuerst Näheres über schleimige Gährung und erkannte als Erreger derselben kleine Coccen, die gewöhnlich perlschnurartig an einander gelagert waren.

Béchamp[2]) fand als Ursache des Schleimig- oder Zähflüssigwerdens zuckerhaltiger Säfte kleine, coccenförmige Microorganismen. Er beobachtete dabei stets Bildung einer bestimmten Gummiart, die er mit dem Namen „Viscose" belegte, und nannte den vermeintlichen Erreger dieser schleimigen Gährung „Micrococcus viscosus".

---

[1]) Bull. de la soc. chim. 1861. 30.

[2]) Compt. rend. Bd. 92. 78.

Naegeli[1]) schreibt darüber Folgendes: „Eine andere Funktion der Spaltpilze ist die Umwandlung von Zucker in einen dem Gummi ähnlichen Schleim. Wenn man Zuckerwasser mit Fäulnisshefe versetzt, so erhält man nicht immer Milchsäure. Je nach der Behandlung wird das Zuckerwasser schleimig und fadeschmeckend. Wenn man die richtigen Verhältnisse trifft, kann der Schleim so dick werden, dass er beim Umkehren der Flasche während einer kurzen Zeit nicht herausfliesst".

Ueber die in der Zuckerrübenindustrie sich häufig unangenehm bemerkbar machende Gelatinirung bezw. Verschleimung des Zuckerrübensaftes, welcher Vorgang gewöhnlich als Froschlaichgährung bezeichnet wird, liegen folgende Untersuchungen vor: Cienkowsky[2]) und van Tighem[3]) erkennen als Ursache der sog. Froschlaichgährung kleine Coccen, die gewöhnlich perlschnurartig an einander gereiht sind und zwar häufig in langen Ketten. Diese Coccenketten sind von einer compakten Schleimhülle umgeben, und durch Aneinanderlagerung dieser Schleim- bezw. Gallertmassen entsteht dann, da der Micrococcus sehr üppig wächst, in kurzer Zeit die Verschleimung des Zuckerrübensaftes. Scheibler[4]) bezeichnet diese Gallertmassen als Dextrau. Derselbe hat das Dextrau als einen weissen, amorphen, in Wasser löslichen Körper dadurch erhalten, dass er die Gallertmassen mit Kalkmilch kochte, den Kalk mit Kohlensäure entfernte, dann mit Salzsäure sättigte und den Gummi vermittelst Alkohol ausfällte.

In neuerer Zeit erschienen mehrere Abhandlungen über Schleimigwerden zuckerhaltiger Flüssigkeiten, hauptsächlich angeregt durch viele Anfragen in der pharmac.

[1]) „Die niederen Pilze" von Naegeli. 1877. 9.

[2]) „Die Gallertbildungen des Zuckerrübensaftes". Charkow. 1878.

[3]) Annal. d. sc. nat. 6 sér. Bd. 7.

[4]) Zeitschrift für Zuckerrübenindustrie 1874. „Ueber die Natur des Froschlaich."

Presse, wobei es sich in den meisten Fällen um schleimiggewordene Pflanzenauszüge, (wie Infus. digitalis, — senegae, - - trifolii, - ipecacuanhae etc.), die mit Zucker versetzt waren, handelte. Einer der ersten, die sich mit dem für den Apotheker sehr unangenehmen Processe beschäftigten, war Bernbeck[1]). Derselbe glaubte hauptsächlich der Beschaffenheit der zum Auszug verwendeten Pflanzen, in diesem Falle Digitalis, die Schuld beilegen zu müssen, und dass besonders bei einjährigen Pflanzen sich grosse Mengen Pectase bilden, die dann in Berührung mit pectinhaltigen Arzneikörpern oft schon nach wenigen Stunden eine Gallerte bilden, und zwar um so mehr, je länger die Infusion bezw. Decoction andauerte.

Zu derselben Zeit veröffentlichte Prof. Binz[2]) in Bonn ebenfalls Untersuchungen über das Schleimigwerden von Digitalis-Infusen. Er entdeckte als Ursache desselben einen dichten Schimmelpilz. Ferner beobachtete er, dass eine $^1/_2\,^0/_0$ Lösung von Digitalin ebenfalls nach einiger Zeit gallertartig wurde, und nahm daher an, dass das Gelatiniren auch ohne Vorhandensein von Pectinsäure stattfinden könne. Aus seinen Versuchen schliesst er, dass dieselben Digitalis-Pflanzen sowohl ein gelatinirendes, als auch ein nicht gelatinirendes Infusum liefern können, und dass dieses nur von den zahlreichen äusseren Umständen, welche die Schimmelbildung erschweren oder erleichtern, abhinge.

Eine weitere Arbeit darüber liegt vor von A. Peltz[3]). Derselbe machte mit fast allen officinellen Kräutern unter den verschiedensten Manipulationen und Zusätzen Versuche bzl. Schleimigwerdens ihrer wässerigen Aufgüsse und constatirte, dass eine Infusionszeit von länger als

[1]) Pharmac. Zeitg. 1879. 3 und 506.
[2]) Pharmac. Zeitg. 1879, 3.
[3]) Pharmac. Zeitg. 1882. 420.

15 Minuten das Schleimigwerden bei Gegenwart von Zucker bedinge. Pectinstoffe veranlassten das Galatiniren nicht.

In ähnlichem Sinne, wie der Vorhergehende, äussert sich Forcke[1]), welcher das Gelatiniren ebenfalls als durch zu langes Erhitzen der Infusen bewirkt annimmt, allerdings nur bei Anwesenheit von Zucker, und zwar durch nachträgliche Einwirkung von Gährungserregern. Das in den Blättern enthaltene Pectin wird nach seiner Ansicht in eine Modifikation umgewandelt, welche unter dem Einfluss von Gährungserregern bei Anwesenheit von Zucker in den schleimigen Zustand übergeführt wird.

E. Kramer[2]) berichtet, dass er in schleimigem Rübensafte Microorganismen fand, die durch eine dünne, durchsichtige Substanz von einander getrennt waren. Unter den verschiedenen Bakterienarten erkannte er als Erreger der schleimigen Gährung einen Bacillus, der häufig in langen Ketten auftritt. In sauerer Nährlösung gedeiht dieser Bacillus, den Kramer „Bac. viscosus sacchari" nennt, nicht. Impfungen von Reinkulturen mit den verschiedensten Nährböden führten ihn zum Resultat, dass ohne Mineralstoffe und Stickstoffsubstanz schleimige Gährung nicht auftritt, und dass Saccharose das einzige Kohlenhydrat zu sein scheint, welches durch den Bacillus unter Bildung von Kohlensäure, Mannit und Schleim zerlegt wird.

W. Bräutigam[3]) weist ebenfalls nach, dass das Gelatiniren zuckerhaltiger Digitalis-Infusen von Microorganismen, die sich wahrscheinlich in der Luft befinden, herrühren muss, und nicht von Stoffen, die das Digitaliskraut enthält. Als Erreger des Gelatinirens konstatirte er einen Micrococcus, der sich schnell ent-

[1]) Pharmac. Zeitg. 1890. 623.

[2]) Sitzungsberichte d. K. Akad. der Wissensch. in Wien, 1889. — Maiheft. „Ueber schleimige Gährung".

[3]) Pharmac. Zentralhalle. 1891, No. 25 und 30.

wickelt und vor seiner Theilung sich streckt. In dieser gestreckten Form wächst er auch auf zuckerhaltigen Nährböden, weshalb er anfänglich von Bräutigam für einen Bacillus gehalten wurde. Durch Versuche mit den verschiedensten Nährböden, die theils zuckerhaltig, theils zuckerfrei waren, fand er, dass Rohrzucker nicht eine nothwendige Bedingung zum Leben dieses Spaltpilzes ist, dass er dagegen zur Gelatinebildung unbedingt vorhanden sein muss, ferner dass Eiweissstoffe zur Bildung der Gelatine nicht nothwendig sind.

Nach diesen Angaben über Schleimbildung in zuckerhaltigen Lösungen seien noch einige Beobachtungen über einen ähnlichen Vorgang beim Wein, Bier und bei der Milch angeführt. Man bezeichnet dieselben, wenn sie durch die schleimige Gährung verändert sind, gewöhnlich als schleimig, fadenziehend, dick, weich, zäh, lang etc.

Bei der Schleimbidung des Weines findet meist eine frühzeitige Essigsäurebildung statt, wobei Mannit und Schleim als Spaltungsprodukte des Zuckers auftreten. Als Ursache der schleimigen Gährung wurden ebenfalls Microorganismen gefunden, die von folgenden Autoren beschrieben sind:

Pasteur[1]) entdeckte in dem Bodensatz aller von ihm untersuchten, schleimigen Weine kleine, runde Microorganismen, welche hauptsächlich durch den Sauerstoff der Luft in ihrem Wachsthum unterstützt werden.

H. W. Dahlen[2]) machte die Beobachtung, dass eine merkliche Verschiedenheit bei den Weinen hinsichtlich des Zähwerdens zu beobachten sei, je nachdem der Zuckergehalt derselben durch den von der Traube herstammenden Zucker oder durch Rohrzucker gebildet

[1]) Compt. rend. d. séa. de l'acad. d. sc. 1864. 11 Janv. „Etudes sur les vins".

[2]) Die Weinbereitung. Braunschweig 1878.

wird. Letzterer wird unter Versetzen mit einem fadenziehenden Weine sehr bald zäh, während bei ersteren dieses nicht der Fall ist. Die Schleimbildung findet meistens bei jungen, noch zuckerhaltigen Weinen statt. Rothweine werden nach Dahlens Beobachtungen selten schleimig, was er dem grösseren Gehalt derselben an Gerbstoff zuschreibt.

Nach E. Mach[1]) hat das im fadenziehenden Weine vorkommende Ferment grosse Aehnlichkeit mit dem von Pasteur erwähnten, welches im Harn vorkommt und ein Kugelbakterium darstellt, das häufig in rosenkranzartigen Ketten auftritt.

Nessler[2]) fand, dass im fadenziehenden Weine unzählige, runde, sich bewegende Körperchen vorhanden sind, die so klein sind, dass sie selbst bei 500 facher Vergrösserung nur als ganz kleine Punkte erscheinen, und dass ferner der Körper, aus welchem der zähe, schleimige Stoff entsteht, nicht Eiweiss, sondern Zucker ist.

Naegeli[3]) schreibt im Anschluss an die Umwandlung von zuckerhaltigen Flüssigkeiten in Schleim durch Spaltpilze, dass in schleimigen, langen Weinen ein Rest von Zucker anstatt durch Sprosspilze in Alkohol, durch Spaltpilze in Gummi umgewandelt würde.

Schmidt-Mühlheim[4]) vermuthet bei der schleimigen Gährung des Weines zwei Gährungsprozesse, die zu gleicher Zeit auftreten, von einander aber völlig unabhängig sind, und zwar so, dass bei dem einen Prozess Mannit und Kohlensäure, bei dem anderen nur die schleimige Substanz gebildet wird.

Kramer[5]) isolirte aus schleimiggewordenen Weinen

[1]) Weinlaube V. 145.

[2]) Behandlung des Weines. III. Auflg. 228.

[3]) Die niederen Pilze. 1877. 9.

[4]) Pflüger's Archiv f. d. ges. Phys. 1882. B. 27. 490.

[5]) Sitzungsberichte der K. Akad. d. Wissensch., Wien. 1889. — Maiheft. 440.

einen anaëroben Bacillus, der nur in Wein, und nicht auf Gelatine, Agar-Agar, Kartoffeln, Rüben etc. gezüchtet werden kann. Da dieser Bacillus nur in ganz jungen Weinen vorkommt, so scheint ihm sein Fortkommen mit dem hohen Eiweissgehalt derselben zusammenzuhängen.

Beim Schleimigwerden von Bier führte man früher die Ursache auf einen hohen Gehalt von Eiweiss zurück. Diese Ansicht wurde jedoch schon von Nessler[1]) als unrichtig festgestellt, und dieses auch von C. Lintner[2]) bestätigt. Letzterer fand, dass es sich auch hierbei um die Vegetation kleiner Lebewesen handelt, welche ebenso wie im Bier, auch in reinen Zuckerlösungen, welchen Mineralstoffe zugesetzt sind, Schleimbildung hervorrufen können. Gerbstoffgehalt stört das Wachsthum dieser Microorganismen, weshalb in stark gehopften Bieren ein Schleimigwerden noch nicht beobachtet wurde.

Pasteur[3]) erkennt als Ursache des Schleimigwerdens der Biere kleine microscopische Organismen an, die sich in der Luft, an den Rohstoffen, den Gebrauchsgegenständen etc. befinden.

P. Lindner[4]) entdeckte einen Pediococcus, der Weissbier schleimig macht. Er beobachtete, dass die schleimigen Biere nach längerem Stehen ihre schleimige Beschaffenheit verloren und nicht mehr fadenziehend gemacht werden konnten. Versuche mit Weissbierwürze und gewönlicher Bierwürze ergaben, dass nur Weissbierwürze dadurch verändert wird. Schleimhüllen um den Pediococcus hat Lindner mit Sicherheit nicht unterscheiden können.

---

[1]) Behandlung des Weines, III. Auflg. 228.

[2]) Lehrbuch der Bierbrauer. 1875. 493.

[3]) Compt. rend. 1876. 17. Nov. „Etudes sur la bière.

[4]) Wochenschrift f. Bierbrauer, 1889. — „Ursache des langen Weissbieres".

H. van Laer[1]) fand als Erreger der schleimigen Gährung des Bieres kleine, dünne Stäbchen von 1.6—2,4 μ Länge und 0,8 μ Breite. In Bierwürze eingeimpft, rufen dieselben eine Trübung hervor und machen dann nach kurzer Zeit die Würze schleimig, fadenziehend. Dieselben Microorganismen fand er auch in Bierwürze, Hefe, in der Luft in Gährungsräumen etc. Er unterscheidet 2 Arten von Bacillen: Bac. viscosus I, der Bierwürze nach Verlauf von 24 Stunden bei 27° unter Entwicklung von Kohlensäure stark schleimig macht, wobei die Zähigkeit der Flüssigkeit stetig zunimmt. Bac. viscosus II, der unter denselben Umständen ebenfalls Schleimigwerden der Flüssigkeit bewirkt. Dieser Schleim ist jedoch nicht so stark, wie der vorhergehende, und es findet nur geringe Kohlensäureentwicklung statt. In reiner Zuckerlösung rufen beide Bacillen keine Veränderung hervor, jedoch nach Zusatz von Pepton. Geringe Acidität verhindert die schleimige Gährung. Der entstandene Schleim besteht aus einer stickstoffhaltigen, in Wasser unlöslichen, und aus einer stickstofffreien, in Wasser löslichen, in absolutem Alkohol unlöslichen Substanz.

Ueber schleimige Gährung der Milch berichtet schon im Jahre 1847 Girardin[2]) in Rouen. Derselbe fand bei fadenziehender Milch einen sehr hohen Eiweissgehalt und glaubte daher, dass dadurch das Schleimigwerden der Milch bedingt sei.

W. Fleischmann[3]) fand, dass schleimige Milch auf gesunde übertragen, diese nach kurzer Zeit auch schleimig macht. Er nimmt aber als Ursache dieses Milchfehlers nicht Microorganismen, sondern Verdauungsstörungen etc. der Kühe an.

[1]) Not. sur l. ferm. visq. — Extr. de mém. cour et autr. mém. publ. par l'acad. roy. de Belgique. 1889.

[2]) Martiny, Die Milch etc. Danzig. 1871. I. 380.

[3]) Das Molkereiwesen, 1875. 95.

Auch Schmidt-Mühlheim[1]) beobachtete, dass fadenziehende Milch eine ausgesprochene Infektionsfähigkeit besitzt, und schliesst daraus richtig, dass diese Krankheit durch Microorganismen bedingt sein möge. Er fand auch in der fadenziehenden Milch kleine, runde, bewegliche Gebilde von 0.001 mm. Durchmesser, die häufig in der Form von Rosenkranzketten aneinander gelagert waren. Weitere Versuche zeigten ihm, dass Lösungen von Mannit, Rohr-, Milch- und Traubenzucker ebenfalls der gleichen Veränderung unterliegen, wenn sie unter geeigneten Umständen mit dem Ferment zusammentreffen. Das letztere bedarf nach ihm auch der anorganischen Nährstoffe (Kal. phosph. Kal. sulfur. Mag. sulfur.) und einer Spur von Eiweiss.

Hueppe[2]) hat ebenso wie Schmidt als Erreger der schleimigen Gährung der Milch kleine Coccen gefunden, deren Identität mit den ersteren jedoch nicht festgestellt ist.

Löffler[3]) bemerkt im Anschluss an die von Schmidt und Hueppe erwähnten Coccen, die die Milch fadenziehend machen, dass er bei seinen Milchkulturen auch einen solchen Organismus gefunden habe. Derselbe bildet jedoch keine Coccen, sondern ziemlich dicke, leicht gebogene Stäbchen, die die Eigenthümlichkeit besitzen, in Nährgelatine mit ausserordentlicher Schnelligkeit in coccenähnliche Segmente zu zerfallen. In der Milch bildet dieser Organismus, unter gleichzeitiger Erzeugung einer schwach sauren Reaktion, die schleimige Substanz, welche sich besonders in tieferen Schichten ablagert.

Malerba und Sanna Salaris[4]) erwähnen ein Bact. gliscrogenum von ovaler Gestalt, welches in einem

[1]) Archiv f. ges. Physiol. 1882. Bd. 27. 490.

[2]) Deutsche medic. Wochenschrift. 1884. Nr. 48. 779. „Ueber Zersetzung der Milch."

[3]) Berliner klin. Wochenschrift. 1887. No. 39. 607 und 629.

[4]) Giovn. internat. d. Scienc. med. Fasc. II. Napoli 1888.

schleimigen Harn aufgefunden wurde, und das im Stande ist, durch Ueberimpfung jeden beliebigen Harn und jede Milch in eine fadenziehende, gelatinöse Masse zu verwandeln.

Guillebeau[1]) beschreibt zwei Bacterien, denen die Eigenschaft zukommt, Milch schleimig zu machen. Einen Coccus, den er als Microc. Freudenreich bezeichnet, und ein Bacterium, das er Bact. Hessii nennt. Beide wurden aus fadenziehender Milch isolirt. Der Coccus hat 2 μ Durchmesser, ist ohne Eigenbewegung und tritt gewöhnlich allein auf. Das Bacterium bildet Stäbchen von 3—5 μ Länge und 1.2 μ Breite, deren Ecken abgerundet und gewöhnlich intensiver färbbar sind als der mittlere Theil. Diese Stäbchen nehmen häufig eine kugelige Form an. Beide Microorganismen verflüssigen die Nährgelatine sehr schnell.

Adametz[2]) fand in einigen Flusswässern bei Wien kurze Stäbchen, die die Milch schleimig machen. Diese von ihm als Bac. lactis viscos. bezeichnete Stäbchen bedürfen zu ihrem Wachsthum unbedingt des freien Sauerstoffs. Um eine schleimige Gährung kann es sich nach seiner Ansicht nicht handeln, vielmehr scheint ihm die die fadenziehende Eigenschaft verleihende Substanz im Zustande der Quellung vorhanden zu sein.

Weigmann[3]) erkannte als Ursache des Langwerdens der Molken einen Micrococcus, der meist als Diplococcus, seltener in Kettenform auftritt, und der am besten bei 30 bis 40 Grad gedeiht. Milch nimmt beim Schleimigwerden saure Reaktion an, was ihm durch Milchsäure hervorgerufen zu sein scheint.

Die Mittheilungen über die schleimige Gährung in chemischer Beziehung sind nicht so zahlreich und aus-

[1]) Landw. Jahrbuch der Schweiz. 1891. „Beiträge zur Lehre v. d. Urs. d. fadenziehenden Milch."

[2]) Milch-Zeitung 1891. 249. „Erreger der schleimigen Milch".

[3]) Milch-Zeitung 1891. 226. „Organ. der sog. langen Wei."

führlich wie die bakteriologischen. Die wichtigsten seien hier angeführt:

In Liebig's[1]) Handwörterbuch der Chemie von 1848 heisst es schon über schleimige Gährung: „Viele zuckerhaltige Pflanzensäfte, wie der Saft von Runkelrüben, Zwiebeln, Möhren etc. gehen bei einer Temperatur von 20 bis 30 Grad unter Gasentwickelung in Gährung über, aber man findet in der gegohrenen Flüssigkeit keinen Alkohol, oder eine Menge, die dem Zuckergehalte bei weitem nicht entspricht. Die Produkte, die sich in dieser Gährung bilden, sind zuerst von Braconnot[2]) untersucht worden, welcher darunter Mannit, einen dem arabischen Gummi ähnlichen Körper, und Milchsäure entdeckte, ein Resultat, welches von Pelouze[3]), Jules Gay Lussac[4]) und Kircher[5]) bestätigt wurde. Letzterer fand, dass der dem Gummi ähnliche Körper identisch in seiner Zusammensetzung mit dem arabischen Gummi ist. Pelouze wies unter den lichtförmigen Produkten Kohlensäuregas und Wasserstoffgas nach, welches letztere übrigens häufig fehlt, ohne dass die anderen Produkte wechseln. Milchsäure, Mannit und Gummi bilden sich in dieser Gährung nebeneinander, und da die gegohrene Flüssigkeit meistens durch den Gehalt an dem schleimigen Produkte eine dicke, fadenziehende Beschaffenheit erhält, so hat diese Art von Gährung den Namen schleimige Gährung erhalten, ein Name, der bezeichnend genug ist, um sie von der Alkoholgährung zu unterscheiden."

Brüning[6]) erwähnt eine Gummiart, die bei der Milchsäuregährung aus dem Zucker entsteht. Nebenbei

[1]) Liebig's Handwörterbuch der Chemie. 1848. Bd. III. 223.
[2]) Annal. d. chim. 1813, LXXXVI. 97. (Anm. d. Verfassers.)
[3]) Annal. d. chim. et d. phys. 1833, LII. 410. (Anm. d. Verf.)
[4]) Annal. d. chim. et phys. 1833, LII. 410. (Anm. d. Verf.)
[5]) Annal der Chem. u. Phys. XXXI. 337. (Anm. d. Verf.)
[6]) Annal. der Chem. u. Pharm. Bd. 104. 197.

bilden sich noch Milchsäure und Mannit. Das durch Alkohol aus dem Schleim gefällte Gummi hatte die Zusammensetzung $C_6 H_{10} O_5$. Die Gummiart ist weder mit Dextrin, noch mit Arabin identisch. Sie reduzirt in alkalischer Lösung das Kupferoxyd nicht, sondern es entsteht ein hellblauer Niederschlag; in dieser Beziehung gleicht er dem Arabin. Die wässerige Lösung dagegen dreht die Polarisationsebene nach rechts, wie das Dextrin.

Pasteur[1]) glaubt, dass der Zucker bei der schleimigen Gährung durch die auf Seite 9 erwähnten Microorganismen nach folgender Gleichung zerlegt würde:

$$25\ C_{12} H_{22} O_{11} + 25\ H_2 O = 12\ (\underset{\text{Gummi}}{C_{12} H_{20} O_{10}}) + 24\ (\underset{\text{Mannit}}{C_6 H_{14} O_6}) + 12\ CO_2 + 12\ H_2 O.$$

wonach aus 100 Thl. Zucker 51,09 % Mannit, 45,48 % Gummi und 6,18 % Kohlensäure gebildet werden.

Später beobachtete Pasteur[2]) häufig, dass bei der schleimigen Gährung die Verhältnisse des Gummis bedeutend höher waren als die des Mannits. In diesem Falle hat er grössere, anders gestaltete Kügelchen angetroffen und lässt deshalb die Möglichkeit gelten, dass dieses Ferment den Zucker nur in Gummi umsetze, ohne dass gleichzeitig Mannit gebildet würde.

Monoyer[3]) ist der Ansicht, dass bei der schleimigen Gährung des Weines zwei vollständig von einander verschiedene Prozesse einwirken, die zwei neben einander verlaufende Vorgänge bilden, und zwar wird bei dem Prozess nur das Mannit und bei dem anderen nur der Gummi gebildet. Er stellt für diese Vorgänge folgende Formeln auf:

[1]) Bullet. d. séanc. 1861. 30. — „Sur la ferm. visq."
[2]) Compt. rend. des seanc. 1876. 176.
[3]) Thése de Strassbourg. 1862.

I. $13\,(C_{12}H_{22}O_{11}) + 12\,(H_2O) = 24\,(\underset{\text{Mannit}}{C_6H_{14}O_6}) + 12\,(CC_2)$.

II. $12\,(C_{12}H_{22}O_{11}) = 12\,(\underset{\text{Gummi}}{C_{12}H_{20}O_{10}}) + 12\,(H_2O)$.

Nach Scheibler[1]) wird unter dem Einfluss einer besonderen Gährung aus dem Rübensaft auf Kosten des Zuckers ein Gummi gebildet. Bei dieser Gährung entsteht gleichzeitig Wasserstoff, Kohlensäure, Mannit, sowie ein anderer flüssiger Zucker und Milchsäure. Das durch Alkohol gefällte Gummi dreht die Polarisationsebene nach rechts und giebt mit Fehling'scher Lösung einen flockigen, blauen Niederschlag.

Durin[2]) fasst die schleimige Gährung von zuckerhaltigen Säften als eine Umwandlung von Zucker in sich gallertartig ausscheidende Cellulose auf.

Béchamp[3]) fand, dass der Zucker bei der schleimigen Gährung zerlegt würde in: schleimige Substanz, Mannit, Milchsäure, Kohlensäure, Alkohol, Essigsäure und viel Glykose. Durch vergleichende Versuche konstatirte er, dass nur durch Rohrzucker die schleimige Substanz gebildet wird, und dass unter denselben Umständen Invertzucker, Stärkezucker und Laevulose keine schleimige Substanz, sondern nur Mannit bilden können.

Schmidt-Mühlheim[4]) erhielt aus schleimiger Milch durch Fällung mit Alkohol eine weisse, etwas klebrige Masse, die in ihrem Aussehen an Fibrin erinnerte. Dieselbe quillt in kaltem Wasser, anscheinend ohne sich zu lösen, unerheblich auf, während sie mit Kalilauge eine äusserst schleimige Masse bildet. Alkalische Kupferlösung wird durch den Gummi nicht reduzirt. Neben dieser gummiähnlichen Substanz ver-

[1]) Berichte der Deutsch. chem. Gesellsch. 1873. 621.
[2]) Compt. rend. Bd. 83. 128.
[3]) Compt. rend. Bd. 93. 78.
[4]) Pflüger's Archiv f. ges. Physiol. 1882. Bd. 27. 490.

muthet Schmidt noch die Bildung von Milch- und Buttersäure. Er nimmt, wie bereits Monoyer, an, dass bei der schleimigen Gährung stets zwei grundverschiedene Prozesse stattfinden, die durch ganz verschiedene Fermente eingeleitet und unterhalten werden. Die beiden Fermente könnte man als Schleim- und als Mannitferment bezeichnen. Bei seinen Versuchen hätte nur das erstere eingewirkt, da niemals Mannit in der schleimigen Milch nachgewiesen werden konnte, und Mannit selbst sehr leicht in schleimige Gährung zerfällt. Ebenso bemerkte er bei der fadenziehenden Milch niemals Kohlensäureentwickelung. Bei der Schleim- oder Mannitgährung des Weines jedoch wies er neben Gummi noch Mannit und Kohlensäure nach.

E. Kramer[1]) ist in seiner schon vorher erwähnten Arbeit der Ansicht, dass der Schleim nicht als ein Produkt der Gährung aufzufassen ist, sondern dass er durch Assimilationsprozess des Gährungserregers d. h. durch Verschleimung der Bakterienmembran entsteht. Kohlensäure und Wasserstoff sind als primäre Produkte und Mannit als sekundäres Produkt der Athmung der Bakterien aufzufassen. Der Wasserstoff verbindet sich mit der Glykose zu Mannit. Der Schleim liefert, mit Alkohol versetzt, einen hyalinen, amorphen Körper, der in Wasser unter starkem Aufquellen nur wenig löslich ist. Die Elementaranalyse des Gummis ergab die Zusammensetzung: $C_6 H_{10} O_5$. Fehling'sche Lösung wurde von normalem Schleim nicht reduzirt, wohl aber nach längerem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure.

Bräutigam[2]) bemerkt in seiner ebenfalls schon vorher erwähnten Arbeit, dass eine Nährlösung von 10 % Rohrzucker, mit den Micrococcen geimpft, nach

[1]) Sitzungsber. der K. Akad. der Wissensch. Wien. 1889. — Maiheft.

[2]) Pharmac. Zentralhalle, 1891. No. 30.

drei Tagen einen Gehalt von 0,4 % Traubenzucker zeigte. Die Gummose stellte eine weisse, zähe, klebrige Masse dar, die Fehling'sche Lösung nicht reduzirte und in Wasser, Alkalien und Säuren nicht löslich war. Eine dreitägige Kultur einer 10 %igen rohrzuckerhaltigen Nährlösung ergab ca. 0,5 % Gelatinose. Die bei der schleimigen Gährung entstehenden Säuren erkannte er als Milchsäure und Spuren von Essigsäure.

Aus den oben angeführten Mittheilungen kann man ersehen, dass die Ansichten sowohl über die schleimige Gährung selbst, als auch über deren Erreger sehr verschieden und unvollkommen sind. Um nun Näheres in bakteriologischer und chemischer Beziehung über diesen Prozess zu ermitteln, war es von Interesse, über folgende Punkte Klarheit zu gewinnen.

1) Wodurch wird die schleimige Gährung veranlasst?

2) Ist Rohrzucker zur schleimigen Gährung unbedingt nöthig, und welche andere Zuckerarten unterliegen ebenfalls dieser Veränderung?

3) Welcher Zuckergehalt ist am günstigsten, und welche Zusätze befördern die Gährung?

4) Entsteht der Schleim durch Quellung der Bakterien-Membran, oder ist er als ein Produkt aufzufassen, in welches der Rohrzucker durch die Microorganismen versetzt wird?

5) Woraus besteht der Schleim?

6) Welche Nebenprodukte entstehen bei der schleimigen Gährung?

I. Bakteriologischer Theil.

Ausgegangen wurde bei den Untersuchungen von einem schleimigen Infusum digitalis, von der Zusammensetzung: Fol. digital. 0,6, Aq. destill. 170,0, Liq. Kal. acet. 10,0, Syr. cort. aur. 20,0, und einem schleimigen Infusum Senegae, das bereitet war aus: Rad. Seneg. 4,0, Aq. destill. 150,0, Syr. gummos. 20,0. Beide Infusen, die regelrecht zubereitet waren, zeigten anfangs keine auffallende Beschaffenheit, nach einiger Zeit jedoch hatten sie schleimige, gelatinöse Consistenz angenommen.

Wenn organisirte Fermente die Ursache des Schleimigwerdens waren, so mussten auch durch Uebertragung der aus den schleimigen Infusen reingezüchteten Microorganismen sterile Infusen von der gleichen Beschaffenheit ebenfalls schleimig werden. Von beiden schleimig gewordenen Infusen wurden nun zur Reinzüchtung der die schleimige Gährung hervorrufenden Microorganismen nach dem bekannten Verfahren Platten gegossen. Auf Platte I (von der ersten Verdünnung) war bei beiden Infusen des allzu starken Wachsthums wegen Nichts mehr zu unterscheiden. Auf Platte II war das Wachsthum schon bedeutend geringer, besonders auf der von dem schleimigen Senega-Infusum. Von Platte III, auf der die einzelnen Colonieen deutlich von einander zu unterscheiden waren, wurden nun die verschiedenen Microorganismen, erkenntlich an der Farbe, Umrandung, Form, Verhalten zur Gelatine etc. ihrer Colonieen, auf sterilisirte Nährgelatine übertragen. Von diesen, aus

den schleimigen Infusen hergestellten Reinkulturen von Hefen, Schimmelpilzen, kurzen und längeren Bacillen, Coccen und Sarcinen wurden einige Oesen vermittelst sterilen Platindrathes auf Digitalis- und auf Senega-Infusen von der gleichen Zusammensetzung, wie die schleimigen, und auf eine Lösung von 10 % Rohrzucker und 1 % essigs. Kalium in Wasser (die Lösung wurde der Einfachheit wegen bei den späteren Versuchen fast ausschliesslich angewendet) übergeimpft und zur Beobachtung bei Zimmertemperatur bei Seite gestellt. Die Infusen und die Zuckerlösung waren vorher durch je ½ Stunde langes Erhitzen im Wasserdampfbade an drei auf einander folgenden Tagen völlig keimfrei gemacht worden. Nach einiger Zeit ergaben sich nun folgende Resultate: Von den aus dem schleimigen Digitalis-Infusum herrührenden Reinkulturen machte nur ein Bacillus die geimpften Infusen und die Zuckerlösung schleimig, während von dem Senega-Infusum ein reingezüchteter Coccus diese Eigenschaft aufwies. Die mit den übrigen Reinkulturen geimpften, zuckerhaltigen Pflanzenaufgüsse und Lösungen waren dagegen noch nach mehreren Monaten ebenso dünnflüssig, wie vorher. Plattenkulturen der beiden Schleimerreger zeigten nur Colonieen derselben Form und Beschaffenheit, und zwar waren dieselben beim Bacillus gelblich-braun mit gefranstem Rande, die Gelatine stark verflüssigend, und beim Coccus gelb mit glattem Rande, die Gelatine nicht verflüssigend. Hierdurch war, zumal Abimpfungen von diesen Platten sich abermals als Schleimerreger zeigten, bewiesen, dass Reinkulturen auf die zuckerhaltigen, schleimig gewordenen Flüssigkeiten übertragen waren. Da die verschiedensten sterilen (nicht mit dem Bacillus und Coccus geimpft) zuckerhaltigen Infusen selbst nach längerem Stehen absolut keine Veränderung zeigten, so war dadurch nachgewiesen, dass Microorganismen die Ursache des Schleimigwerdens zuckerhaltiger Infusen

sein müssen, und dass nicht die Blätter und Stiele von Digitalis, der hohe Gehalt an Pectinstoffen, unrationelle Trockenmethoden der Pflanzen, Schimmelpilze etc., wie von einigen vorher erwähnten Forschern angenommen wurde, das Schleimigwerden veranlassen.

Vorkommen der beiden Erreger von schleimiger Gährung:

Um zu erfahren, ob vielleicht die Ingredienzen, die zur Bereitung der beiden Infusen angewandt waren, die Träger der Schleimerreger sein könnten, wurde sterile 10 % Rohrzuckerlösung mit folgenden, aus 5 Berliner Apotheken und aus den beiden auswärtigen Apotheken, die mir zur Zeit die schleimig gewordenen Infusen überlassen hatten, bezogenen Droguen, die als Infusum oder Decoctum zur Anwendung kommen, versetzt: Flor. sambuci, Flor. verbasci, Fol. belladonnae, Fol. digitalis, Fol. farfarae, Fol. hyoscyami, Fol. stramonii, Fol. trifolii, Fol. uvae ursi, Lichen islandicus, Rad. althaeae, Rad. ipecacuanhae, Rad. senegae, Rad. liquiritiae. Die mit diesen Droguen versetzten Zuckerlösungen wurden zur Beobachtung bei Zimmertemperatur bei Seite gestellt. Nach 4—5 Wochen war von einer Veränderung, die man als schleimig oder gelatinös ansehen konnte, bei keinem der Versuche zu konstatiren. Versuche, ob vielleicht Wasser die Ursache des Schleimigwerdens in sich enthielte, waren ebenfalls von negativem Resultat, da die verschiedensten Wässer mit steriler Zuckerlösung versetzt keine schleimige Veränderung hervorriefen.

Es lag die Annahme nahe, dass die Microorganismen aus der Luft in die betreffenden, schleimig gewordenen Infusen übertragen waren. Diese Annahme wurde bezüglich des Bacillus bestätigt und zwar durch folgende Versuche: Zu verschiedenen Zeiten (in den Monaten Februar, Mai, Juli und Oktober) wurden von einem Fenster des Arbeitsraumes aus je 100 Liter Luft durch sterile 10 % Rohrzuckerlösung, welche sich in gewöhn-

lichen Gaswaschflaschen befand, hindurch gesaugt, und mehrere Tage bei Seite gestellt. Unter 8 Versuchen trat zweimal die gallertartige Schleimbildung auf, und in beiden Fällen war es der aus dem schleimigen Digitalis-Infusum reingezüchtete Bacillus, was durch Plattenkulturen, Reinzüchtungen und Impfversuche konstatirt wurde. In den 6 anderen Fällen trat Schleimbildung nicht ein, ein Zeichen, dass diese Bacillen nur spärlich in der Luft vorkommen und aus derselben in die zuckerhaltigen Arzneien übertragen werden.

Um nun das Vorkommen des Coccus, der das Senega-Infusum schleimig gemacht hatte, zu ermitteln, wurden Luftversuche, wie die vorhergehenden, in den verschiedensten Räumen, wie Wohn- und Schlafzimmer, in der hiesigen Kgl. Charitee, (in letzterer waren zuckerhaltige Pflanzenauszüge öfters schleimig geworden) im Keller, auf dem Boden, in Pferde-, Kuh- und Schafställen und auf verschiedenen Aborten gemacht, aber bezüglich des Coccus ohne Erfolg, während der Bacillus noch einige Mal konstatirt wurde. Es war jedoch schon vorher die Beobachtung gemacht worden, dass Urin, welcher einige Zeit unverschlossen aufbewahrt worden, die Eigenschaft angenommen hatte, Zuckerlösung schleimig zu machen, und zwar konnte durch Reinzüchtung des betreffenden Schleimerregers ein Coccus nachgewiesen werden, der im Aussehen, Wachsthum und seinem Verhalten den verschiedenen Nährböden gegenüber vollständig dem aus dem schleimigen Senega-Infusum isolirten Coccus glich und mit diesem demnach identisch sein musste. Es wurden nun sterile Zuckerlösungen mit folgenden Zusätzen, die vorher nicht in den Räumen des Laboratoriums aufbewahrt waren, versehen: Verschiedene Urine von Menschen, Urin von Kühen, Urin von Pferden, Speichel, Koth von Menschen, Koth von Pferden, Koth von Kühen, Koth von Schafen, Koth von Mäusen, Aufgüsse von Heu und Stroh.

Sämmtliche Zusätze wurden sowohl frisch, als auch nachdem sie einige Zeit unverschlossen aufbewahrt waren, den Zuckerlösungen zugesetzt. Es wurde gefunden, dass die Zuckerlösungen, die mit 2 verschiedenen Urinen von Menschen, mit Mäusekoth und mit Koth und Urin von Kühen geimpft waren (sämmtliche Zusätze, die schleimig gemacht hatten, waren einige Zeit vorher aufbewahrt) schon nach einigen Tagen eine gelatinöse, schleimige Beschaffenheit angenommen hatten, während die anderen Versuche selbst nach längerem Aufbewahren keine diesbezüglichen Resultate lieferten. In den schleimig gewordenen Zuckerlösungen konnte nach Reinzüchtung und Impfversuchen des schleimerregenden Microorganismus ein Coccus konstatirt werden, der mit dem Coccus aus dem Senega-Infusum identisch sein musste, da er ganz genau dieselben Wachsthumserscheinungen, Einwirkungen auf die verschiedenen Nährflüssigkeiten und Formen zeigte. Es fragt sich nun, war der Coccus schon vorher in den oben angeführten Excrementen oder ist er durch die athmosphärische Luft auf dieselben übertragen worden. Obgleich die sämmtlichen Luftversuche bezüglich des Coccus ohne Resultat waren, kann man doch annehmen, das derselbe in der Luft vorkommt, da in allen zu den Versuchen angewandten, frischen Excrementen niemals Microorganismen gefunden wurden, die mit dem isolirten Coccus sowohl bezüglich ihres Aussehens und Wachsthums als auch ihrer Einwirkung auf Zuckerlösung und zuckerhaltige Pflanzenauszüge identisch sein konnten. Es war demnach bei dem Bacillus nachgewiesen, dass er in der Luft vorkommt, während es vom Coccus nur angenommen werden kann.

Bacillus: Form: Grosse, dicke Stäbchen mit abgerundeten Ecken, 5—7,5 μ lang, 06—2 μ breit. Meistens zu mehreren an einander gereiht, seltener einzeln. Die Form der Bacillen ist jedoch verschieden

und hängt von dem Nährboden und dem Alter der Kulturen ab. In Gelatine sind die Bacillen gleichmässig dick, seltener in der Mitte etwas eingeschnürt. Auf Agar-Agar nehmen sie an Länge und besonders an Dicke zu und erscheinen in älteren Kulturen spindelförmig.

Beweglichkeit: Eigen- und Molekularbewegung können im hängenden Tropfen anfangs nicht wahrgenommen werden. Nach einigen Stunden ist jedoch deutliche, wenn auch schwache, schlangenartige Eigenbewegung zu bemerken, die jedoch nach einiger Zeit, anscheinend wenn aller vorhandene Sauerstoff verbraucht ist, wieder aufhört. Geisselfärbung nach Löfflers Methode gelang besonders bei älteren Gelatine-Kulturen.

Wachsthum: Auf Gelatine-Platten (neutral, 10 % Gelatine) wächst der Bacillus ziemlich rasch. Schon nach 15 Stunden kann man bei 150 facher Vergrösserung kleine, runde, glänzende Colonieen entdecken, welche gewöhnlich mit einem kreisrunden, seltener ovalen, glatten Rande umgeben sind. Im Centrum bemerkt man haarig-lockenförmiges Gebilde von Fäden. Die Colonie selbst erscheint grau, während die Fäden dunkler resp. schwarz aussehen. Nach 24 Stunden sind die Colonieen mit blossem Auge sichtbar, und die ganze Platte hat bei auffallendem Lichte wegen der vielen, glänzenden Colonieen, um die bereits schwache Verflüssigung der Gelatine eingetreten ist, das Aussehen einer bethauten Fensterscheibe mit bläulich-weissem Schimmer. Bei durchfallendem Lichte erscheinen die Colonieen farblos, nur in der Mitte ist ein helleres Pünktchen bemerkbar. Nach 2 Tagen ist der Rand der Colonieen nicht mehr glatt, sondern mit vielen Erhebungen, Ausläufern versehen. Nach 3 Tagen zeigt auch das Centrum sich verändert. Dasselbe ist bedeutend dunkler geworden, die schwarzen Fäden sind nicht mehr so sichtbar, wie vorher, ferner kann man deutlich einige Zonen in dem-

selben bemerken, die sich durch hellere Färbung von dem dunkleren Grunde abheben. Der Rand ist mit vielen, dünnen, kurzen, haarartigen Ausläufern versehen. Die Colonieen wachsen unter starkem Verflüssigen der Gelatine sehr rasch, und nach 5—6 Tagen ist die ganze Platte verflüssigt. Um das Wachsthum auf sauerem und alkalischem Nährboden zu ermitteln, wurden folgende Versuche gemacht: Je 10 ccm. neutraler, 10 % Nährgelatine wurden mit 0,1—5 Tropfen reiner Essigsäure und mit ebenso viel Normal-Kalilauge (56 : 1000) versetzt, und damit nach Impfung mit dem Bacillus Platten gegossen. Diese Platten zeigten (saure und alkalische mit einander verglichen) bis zum Zusatz von 0,4 Tropfen ungefähr dasselbe Aussehen und Wachsthum. Dann aber trat ein immer grösser werdender Unterschied ein. Bei den sauren Platten wurden Wachsthum und Verflüssigung immer geringer, bei den alkalischen dagegen war das Wachsthum bei Platte mit 1 Tropfen am stärksten, von da nahm es ebenfalls, wenn auch langsam ab. Bei dem Zusatz von 2 Tropfen Essigsäure hörte das Wachsthum vollständig auf, wärend dieses bei dem alkalischen Nährboden erst nach 6 Tropfen Normal-Kalilauge eintrat.

Stichkultur in Gelatine: Schon nach einem Tage bemerkt man längs des Impfstiches schwaches Wachsthum, nach zwei Tagen zeigt sich am Eingange des Impfstiches ein helles, glänzendes, einsinkendes Tröpfchen, als Zeichen der Verflüssigung, welche in den folgenden Tagen trichterförmig weiterschreitet. Nach ungefähr acht Tagen ist bereits der ganze obere Theil der Gelatine verflüssigt, und in dem unteren Theile der flüssigen Gelatine lagert auf dem noch festen Theile eine weisse, wolkige, zusammenhängende Schicht. Nach wenigen Wochen ist die ganze Gelatine im Reagensglase flüssig, und nur am Boden desselben kann man weissliche Granulationen bemerken.

Strichkultur auf Agar-Agar: Auf diesem Nährboden gedeiht der Bacillus ebenfalls sehr gut. Nach 24 Stunden schon zeigt sich ein deutlich sichtbarer, feuchtglänzender Belag längs des Impfstriches. Nach einigen Tagen kann man zwei verschiedene Zonen bemerken, und zwar ist die innere am Impfstrich befindliche Zone etwas erhöhter, runzlig, trocken, weiss, während die äussere Zone glatt, glänzend und mehr bläulich-weiss erscheint. Die Peripherie der Kultur ist charakteristisch buchtig gerandet. Im Agar-Impfstich zeigen sich auf der Oberfläche ebensolche concentrische Zonen, so dass der weissliche Belag das Aussehen einer Rosette bekommt.

Wachsthum auf Kartoffeln und Rüben: Auf diesen Nährböden zeigte der Bacillus die Eigenthümlichkeit, schon nach 1—2 Tagen in coccenähnliche Involutionsformen überzugehen. Diese so gebildeten Coccen haben einen Durchmesser von 0,65—0,8 μ und wachsen zuerst als feuchter, glänzender Belag, der nach wenigen Wochen sich jedoch in eine weissliche, trockene, faltige Haut, die fest auf ihrem Boden haftet, verwandelt. Auf Gelatine und Agar-Agar übertragen, nehmen diese coccenähnliche Gebilde wieder in ganz kurzer Zeit Stäbchenform an.

Temperaturoptimum: Dasselbe liegt zwischen 25^0 und 30^0. Wurden die Kulturen drei Tage lang dem direkten Sonnenlichte ausgesetzt, so konnte kein Wachsthum mehr konstatirt werden. Der Bacillus bedarf zu seinem Fortkommen nicht unbedingt des Sauerstoffs, jedoch ist das anaërobe Wachsthum bedeutend geringer als das aërobe.

Endogene Sporenbildung des Bacillus konnte sowohl bei Gelatine-, als auch besonders bei älteren Agar-Agar-Kulturen nach der Gram'schen Methode deutlich nachgewiesen werden.

Coccus. Form: Kleine, runde Coccen von 0,4 μ

Durchmesser, die meistens zu zwei zusammenliegen, also als Diplococcen auftreten. Nur selten waren 4 bis 6 Coccen aneinander gelagert zu bemerken, öfters waren sie zu Häufchen vereinigt.

Beweglichkeit: Eigenbewegung war selbst nach längerer Beobachtung unter den verschiedensten Bedingungen nicht zu beobachten, wohl aber die sog. Brown'sche Molekularbewegung.

Wachsthum: In Gelatine sehr langsam. Die Platten zeigen erst nach 4 bis 5 Tagen kleine, weisse Pünktchen, die bei 150facher Vergrösserung als runde, glattrandige, gelblich gefärbte Kolonieen erscheinen, die im Centrum ein gleichmässiges, haariges Gewebe zeigen. Später nimmt die Kolonie etwas an Grösse zu (bis $^2/_3$ mm), die Farbe wird mehr gelb-braun, die innere Struktur verschwindet vollständig, und die ganze Kolonie erscheint gleichmässig mit vollständig glattem Rande. Eine Verflüssigung der Gelatine tritt nicht ein. Werden der Nährgelatine 10 % Rohrzucker zugesetzt, so ist das Wachsthum bedeutend stärker, und die Coccen nehmen eine mehr ovale, gestreckte Form an. Noch deutlicher treten diese Erscheinungen bei Zusatz von 25 % Zucker ein, wobei sogar die Gelatine schwach verflüssigt wird, und die Coccen auch etwas an Grösse zunehmen. Behufs Ermittelung des Wachsthums der Coccen auf saurem und alkalischem Nährboden wurden, genau wie beim Bacillus, Platten gegossen, wobei sich zeigte, dass bei einem Zusatz von 0,8 Tropfen reiner Essigsäure auf 10 ccm Nährgelatine das Wachsthum des Coccus bereits aufhörte, während auf alkalischem Nährboden die Coccen noch bis zum Zusatz von 3 Tropfen Normal-Kalilauge (56 : 1000) gediehen. Der Coccus ist demnach in saurem Nährboden bedeutend weniger lebensfähig als in alkalischem.

Stichkultur in Gelatine. Nach 2 bis 3 Tagen bemerkt man einen feinen Stich von schleierartigen

Aussehen. Es entwickelt sich dann allmählich ein dünner, weisser, zäher Faden. Gelatine wird nicht verflüssigt. Oberflächenwachsthum ist nicht zu beobachten. Ist der Gelatine Zucker zugesetzt, dann ist das Wachsthum stärker, die Gelatine nimmt allmählich eine dicke, schleimige, gummiähnliche Konsistenz an, und der Impfstich verschwindet sehr rasch. Ferner ist dann auch Oberflächenwachsthum zu bemerken.

Strichkultur auf Agar-Agar. Wachsthum sehr schwach. Erst nach 10 bis 12 Tagen bemerkt man längs des Impfstriches einen dünnen, mattglänzenden, farblosen, leicht ablösbaren Belag.

Wachsthum auf Kartoffeln und Rüben: Auf diesen beiden Nährböden, besonders auf Rüben, wächst der Coccus bedeutend schneller und stärker, als in Gelatine und Agar-Agar. Nach 24 Stunden schon ist auf Rüben ein feuchter Belag vorhanden. Nach drei Tagen ist die Rübenscheibe fast auf der ganzen Oberfläche mit einer weisslichen, dickflüssigen Schicht bedeckt, woraus sich allmählich ein glatter, glänzender Ueberzug entwickelt, der sich über die ganze Rübenscheibe hinzieht und derselben das Aussehen giebt, als ob sie mit einer Syrupschicht überzogen sei. Bei der Kartoffel ist das Wachsthum gleich dem auf der Rübe, jedoch nicht so stark.

Temperaturoptimum liegt zwischen 15^0 und 20^0. Bei Reinkulturen des Coccus auf Agar-Agar, die einen Tag lang dem direkten Sonnenlichte ausgesetzt sind, hört bereits das Wachsthum vollständig auf. Der Coccus wächst anaërob, ebenso wie aërob.

Um zu ermitteln, ob die beiden Microorganismen irgend welchen Einfluss auf den thierischen Organismus haben, wurden folgende Versuche gemacht: Mäuse und Kaninchen wurden längere Zeit mit Futter unterhalten, dem in reichlicher Menge Reinkulturen der beiden Microorganismen zugesetzt waren. Es war jedoch nach

längerer Beobachtung äusserlich keine Veränderung bemerkbar, auch konnten im Blut und in den Organen die Microorganismen später niemals mehr nachgewiesen werden. Ebenso waren subcutane Einspritzungen und Einspritzungen in die Halsvenen bei Kaninchen ohne jeden Einfluss. Die Microorganismen konnten auch in diesen Fällen niemals mehr nachgewiesen werden. Es war also dadurch konstatirt, dass die beiden Microorganismen auf den thierischen Organismus absolut keinen Einfluss auszuüben im Stande sind.

Da bei den folgenden Versuchen die beiden Microorganismen stets zusammen beschrieben werden, so soll der Einfachheit halber der Bacillus als „Bacillus gummosus" und der Coccus als „Micrococcus gummosus" bezeichnet werden.

Versuche, ob Zucker unbedingt nothwendig zur Schleimbildung ist:

Infus. digital.	(1 : 100)	mit Zusatz von 10%	Rohrzucker
„		ohne „	„
Infus. seneg.	(5 : 100)	mit „	„
„		ohne „	„
Infus. ipecacuanh.	(1 : 100)	mit „	„
„		ohne „	„
Dec. althae.	(5 : 100)	mit „	„
„		ohne „	„

Sämmtlichen Pflanzenaufgüssen war 1 % essigs. Kalium, das die Schleimbildung befördert, zugesetzt.

Lösungen von Digitalin in Wasser: 0,1 %, 0,2 %, 0,5 %, 1 %, 2 %, 5 %, 10 %. Die Lösungen wurden sowohl mit, als auch ohne Zusatz von essigs. Kalium angewendet.

Lösungen von essigsaurem Kalium allein, ohne Zuckerzusatz: 0,5 %, 1 %, 2 %, 5 %, 10 %.

Steriles Wasser ohne jeglichen Zusatz.

Sämmtliche Lösungen und Pflanzenaufgüsse wurden, nachdem sie völlig keimfrei gemacht worden waren, mit

Reinkulturen des Bac. gummos. und des Microc. gummos. geimpft und bei Zimmertemperatur zur Beobachtung bei Seite gestellt. Nach zwei Tagen war schleimige Gährung nur bei den mit Zucker versetzten Pflanzenaufgüssen eingetreten, während die anderen Versuche selbst nach monatelangem Aufbewahren keine Veränderung zeigten.

Versuche, welche andere Lösungen bezw. Fruchtsäfte mit einem anderen Zucker als Rohrzucker ebenfalls durch die beiden Microorganismen in schleimige Gährung versetzt werden können. Jeder der folgenden Versuche wurde sowohl mit, als auch ohne Zusatz von 1 % essigsaurem Kalium ausgeführt:

Birnensaft, Aepfelsaft, Apfelsinensaft, Weinmost, wässeriger Auszug von grossen und kleinen Rosinen, 10% Traubenzucker, 10 % Malzextrakt, 10 % Mannit, 10 % Manna, 10 % Gerstenzucker, 10 % Milchzucker, 10 % Malzzucker, 10 % Honig, 10 % Dextrin, 10 % Stärkekleister, 10 % Glycerin, 10 % Laevulin, Lösungen von Tannin, Galläpfelauszug, Malzaufguss, Helles Bier, Münchener Spatenbier, Berliner Weissbier, Weisswein, Rothwein, Xeres, Malaga, Tokayer, frische und sterilisirte Milch.

Durch den Bac. gummos. wurde keine dieser Lösungen etc. verändert, während durch den Microc. gummos. nur die Malzzuckerlösung schleimig, gelatinös wurde.

Versuche, welche Zusätze zur Zuckerlösung die schleimige Gährung derselben befördern. 10% Zuckerlösung wurde mit je 1 % der folgenden Zusätze vesetzt und nach dem Sterilisiren mit Reinculturen der beiden Microorganismen geimpft:

Kaliumacetat, Natriumacetat, Ammoniumphosphat, Ammoniumcarbonat, Ammoniumtartrat, Kaliumnitrat, Natriumcarbonat, Calciumphosphat, Calciumchlorat, Kalium-Natriumtartrat, Magnesiumchlorid, Magnesium-

sulfat, Natriumphosphat, Ammoniumchlorat, Hefeasche (von käuflicher Hefe), 10%, 5% und 1% Kalkwasser. Auflösung von 10% Rohrzucker in Gypswasser.

Für den Bac. gummos. erwiesen sich als besonders günstig die Zusätze: Kaliumacetat, Natriumacetat, Calciumphosphat, Hefeasche und 5% Kalkwasser, durch welche die Zuckerlösungen bei einer Temperatur von 25° schon in 10 bis 12 Stunden in schleimige Gährung versetzt waren. Ammoniumchlorid, Natriumphosphat und 1% Kalkwasser machten nach 18 Stunden schleimig, bei den übrigen Zusätzen trat die Verschleimung erst später ein.

Bei dem Microc. gummos. beförderten folgende Zusätze das Schleimigwerden: Kaliumacetat, Natriumacetat, Kalium-Natriumtartrat, die schon nach 8 Stunden schleimig machten, dann Kaliumnitrat, Calciumphosphat, 5% Kalkwasser und Hefeasche, die nach 12 Stunden, und Natriumphosphat, 1% Kalkwasser und Gypswasser, die nach 18 Stunden die Zuckerlösung schleimig machten.

Verschiedene Mischungen der einzelnen, die schleimige Gährung befördernden Zusätze waren nicht von besonderem Erfolg. Es wurde deshalb bei den Versuchen stets nur 1% Kaliumacetat der Zuckerlösung zugesetzt.

Versuche, ob Zusätze von Mineralstoffen zur Zuckerlösung unbedingt nothwendig zur Schleimbildung sind, und welcher procentische Zusatz am günstigsten einwirkt:

10% Zuckerlösung versetzt mit:

20 %	
10 %	Kaliumacetat
5 %	Natriumacetat
2 %	Calciumphosphat
1 %	Hefeasche
0,5 %	Kalkwasser

und Zuckerlösungen von verschiedenem Zuckergehalt ohne Zusatz von Kaliumacetat etc., geimpft mit Rein-

kulturen der beiden Microorganismen und bei einer mittleren Temperatur (ca. 20°) beobachtet.

Es ergab sich folgendes Resultat:

Zuckerlösung mit 2% Kaliumacetat etc. nach 10 Stunden, mit 0,5 % und 1 % nach 12 Stunden, Zuckerlösung ohne Zusatz von Kaliumacetat etc. nach 28 Stunden, mit 5 % nach 3 Tagen, mit 10 % erst nach längerer Zeit (10 bis 12 Tagen) schleimig. 10% Kalkwasser, 10% Hefeasche und 10% Calciumphosphat machten nicht mehr schleimig. Der Zusatz von 20 % verhinderte bei allen Mineralstoffen die schleimige Gährung. Die Versuche stimmten bei den angewendeten Mineralstoffen sowohl, als auch bei den beiden Microorganismen annähernd überein. Es war mithin bewiesen, dass Kaliumacetat, wie überhaupt alle mineralischen Zusätze, die Schleimbildung nur befördern, aber nicht veranlassen, da reine Rohrzuckerlösung ebenfalls, wenn auch etwas langsamer, schleimig wird.

Versuche, welcher Zuckergehalt am günstigsten für die schleimige Gährung, hervorgerufen durch den Bac. gummos., ist.

2½ %	Rohrzucker	—	schleimig in	36	Stunden
5 %	„		„ „	36	„
10 %	„		„ „	18	„
20 %	„		„ „	24	„
30 %	„		„ „	3	Tagen
40 %	„		„ „	3	„
50 %	„		„ „	10	„
60 %	„	nicht verändert			
70 %	„	nicht verändert.			

Darnach ist der Zuckergehalt bis zu 20 % für den Bac. gummos. am günstigsten.

Versuche, welcher Zuckergehalt bei der schleimigen Gährung, hervorgerufen durch den Microc. gummos., am günstigsten ist:

$2\frac{1}{2}$ %	Rohrzucker	—	schleimig	in 4	Tagen
5 %	„		„	„ 4	„
10 %	„		„	„ 18	Stunden
20 %	„		„	„ 24	„
30 %	„		„	„ 2	Tagen
40 %	„		„	„ 3	„
50 %	„		„	„ 5	„
60 %	„		„	„ 8	„
70 %	„		nicht verändert.		

Beim Microc. gummos. stellt sich darnach der am günstigsten wirkende Zuckergehalt etwas anders, als bei dem Bac. gummos. 10 % und 20 % werden am schnellsten verändert, dann folgen 30 % und 40 %, und nach diesen erst die unter 10 %. Es wird jedoch später nachgewiesen werden, dass der Gehalt an Gummose, desjenigen Körpers, der die schleimige Konsistenz bewirkt, bei beiden Microorganismen bis zu 10 % am höchsten ist, und von da ab rasch fällt, beziehungsweise nicht mehr im Verhältniss zum Zuckergehalte steigt. Ein sehr hoher Zuckergehalt verhindert sogar die schleimige Gährung, beim Bac. gummos. 60 %, beim Microc. gummos. 70 %.

Durch die vorhergehenden Versuche dürfte nun hinlänglich bewiesen sein, dass Rohrzucker unbedingt zur schleimigen Gährung nothwendig ist, und dass nicht etwa Digitalin und die Pflanzenaufgüsse allein auf diese Weise verändert werden können. Nur Malzzucker-Maltose — wurde eigenthümlicherweise nur durch den Microc. gummos. und niemals durch den Bac. gummos. in schleimige Gährung versetzt, während Malzaufguss niemals verändert wurde. Bemerkt sei noch, dass sämmtliche Lösungen, die zu den Versuchen verwendet wurden, durch dreimaliges Erhitzen im Wasserdampfbade zuerst vollständig keimfrei gemacht worden waren, und dass die Impfungen mit den Reinkulturen der beiden Microorganismen derartig ausgeführt wurden, dass das

Eindringen eines anderen Organismus in die betreffenden Lösungen vollständig ausgeschlossen war. Ferner wurden die Versuche nicht einmal, sondern mindestens dreimal gemacht, und die Beobachtungen Monate lang fortgesetzt.

Der Umstand, dass die beiden Microorganismen nur Rohrzuckerlösungen und niemals Traubenzuckerlösungen schleimig machten, könnte vielleicht praktische Verwerthung zum Nachweis von Rohrzucker in Traubenmost finden[1]). Versuche, die mit Reinkulturen der beiden Bacterien in dieser Beziehung gemacht wurden, ergaben, dass ein 5 % Rohrzucker enthaltender Weinmost schon nach 1½ Tagen, ein Most mit 10 % Rohrzucker nach 2 Tagen und mit einem Gehalt von 1 % und 2 % nach 3 Tagen vollständig schleimig, gelatinös war. Dagegen zeigte Traubenmost ohne Rohrzuckergehalt nach Impfung mit den beiden Microorganismen absolut keine Veränderung. Die schleimige Gährung des zuckerhaltigen Traubenmostes wurde durch den Microc. gummos. immer etwas schneller, als durch den Bac. gummos. hervorgerufen.

Es musste nun ermittelt werden, auf welche Weise der Schleim aus dem Rohrzucker gebildet wird. Ist die Scheimbildung durch die beiden Microorganismen auf die Vergallertung der Membranen der sich lebhaft vermehrenden Bakterien zurückzuführen, wie dieses z. B. bei Leuconostoc, dem von Scheibler, Cienkowsky und van Tighem bei der in den Zuckerfabriken häufig auftretenden sogenannten Froschlaichgährung (Dextrangährung) beobachteten Bacterium (vergl. litterar. Thl.) der Fall ist, oder ist sie als ein Produkt aufzufassen, in welches der Rohrzucker durch die Microorganismen versetzt wird. Zur Beantwortung

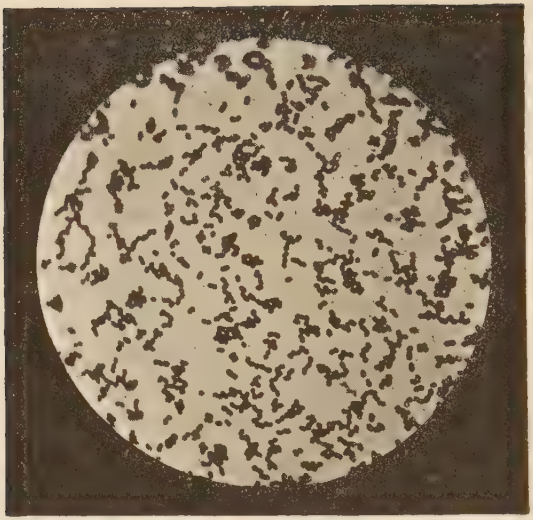
[1]) Ritsert, Vortrag i. d. pharmaceutischen Gesellschaft zu Berlin, 4. Dezember 1891.

dieser Fragen wurde versucht, mit Hülfe der verschiedensten Färbemethoden einen Unterschied zwischen dem Microorganismus selbst und der ihn umgebenden Schleimschicht zu konstatiren. Dabei fiel es zunächst auf, dass der Bac. gummos. (aus Reinkultur in Gelatine und auf Agar-Agar) in Zuckerlösung übertragen, nach 2 bis 3 Tagen, wenn der Gummischleim sich gebildet hatte und die schleimige Gährung beendigt war, wieder Coccenform angenommen hatte, wie dieses schon früher bei seinem Wachsthum auf Rüben und Kartoffeln beobachtet worden war. Man bemerkte in der von dem Bacillus veränderten Zuckerlösung nur noch lange Ketten aneinander hängender Coccen, ferner auch viele Diplococcen und wenige Einzelcoccen. In den durch den Microc. gummos. schleimig gemachten Zuckerlösungen war von einer Veränderung des Schleimerregers nichts zu bemerken.

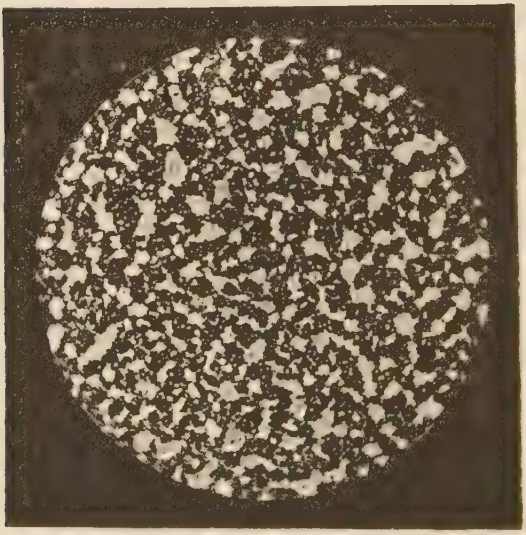
Im hängenden Tropfen bemerkt man bei den durch die beiden Microorganismen schleimig gewordenen Zuckerlösungen eine gleichmässige Schleimmasse, in welcher die Coccen eingebettet liegen. Eine Differenzirung in der Schleimmasse selbst konnte nicht beobachtet werden, ebenso war eine Quellung der Bakterien-Membran niemals zu bemerken. Die verschiedensten Versuche, in den schleimigen Flüssigkeiten durch Färben eine Schleimhülle um die Bakterien zu entdecken, waren ebenfalls ohne Erfolg. Photographische Aufnahmen der Reinkulturen und des Zuckerschleimes liessen auch darauf schliessen, dass die schleimige Masse nicht aus derselben Substanz besteht, wie die Bakterienmembran. Während auf Bild I (von Gelatine-Reinkultur) die Coccen bezw. Diplococcen schwarz mit einer weissen, deutlich von dem dunkler gefärbten Grunde sich abhebenden Randschicht, die die Membran der Bakterien darstellen muss, umgeben sind, erscheinen dieselben auf Bild II (von schleimiger Zuckerlösung) im Schleim. der

röthlich gefärbt ist, eingebettet. Wäre der Schleim von gleicher Zusammensetzung wie die Membran, so würde er, wie diese, ungefärbt bleiben. Dieses ist aber nicht der Fall, da die zwischen den Coccen liegende Substanz nicht weiss, wie auf Bild I aussieht, sondern dunkler erscheint.

I.



II.



II. Chemischer Theil.

Die Zuckerlösungen erfahren also durch die schleimige Gährung, wie sie durch die beiden vorher beschriebenen Microorganismen hervorgerufen wird, eine chemische Veränderung.

Bemerkt sei vorher, dass die Umsetzungen der Zuckerlösungen durch den Bac. gummos. und den Microc. gummos. sowohl in chemischer, als auch in physikalischer Beziehung ungefähr dieselben sind.

Die schleimigen Flüssigkeiten haben die Consistenz eines dicken Gummischleimes. Sie sind jedoch mehr gelatinös, zähe, zusammenhängend. Beim Schütteln läuft der Schleim schülferig an den Wänden herunter. Oefters ist auch der Schleim so consistent, dass er beim Umkehren der Gefässe erst nach längerer Zeit herausfliesst und sich in lange Fäden ausspinnen lässt. Die Schleime opalisiren selbst bei sehr grosser Verdünnung noch stark. Der Geruch ist eigenthümlich schwach säuerlich, der Geschmack fade.

Essigsaures Blei fällt den Schleim nicht. Alkohol und Aether scheiden dagegen sämmtliche Gummose aus den schleimigen Flüssigkeiten aus. Die Polarisationsebene wird nach rechts abgelenkt. Durch die in der Hitze erfolgende Reduktion alkalischer Kupfer- und Wismuthsalzlösung konnte in allen Fällen die Anwesenheit von Traubenzucker konstatirt werden. Derselbe wurde jedoch nicht in bestimmtem, sondern in sehr wechselndem Verhältniss nachgewiesen. Auf 10% Rohrzucker 0,03 % bis 0,35 % Traubenzucker.

Um zu ermitteln, wieviel Gummose durch den Bac. gummos. und den Microc. gummos. aus dem Rohrzucker gebildet wird, wurden Lösungen von verschiedenem Rohrzuckergehalt, denen 1 % essigsaures Kalium zugesetzt war, mit den Reinkulturen der beiden Microorganismen geimpft, und nach mehreren Tagen, nachdem vollständige Verschleimung eingetreten war, vermittelst Alkohol die Gummose herausgefällt. Nach dem vollständigen Auswaschen wurde dieselbe getrocknet und gewogen. Selbstverständlich schwankten die gefundenen Werthe innerhalb enger Grenzen. Die nachstehenden Zahlen stellen die Mittelwerthe aus je 5 Parallelversuchen dar.

100,0 der mit dem Bac. gummos. geimpften Rohrzuckerlösung lieferten bei einem Gehalt von

2½ %	Rohrzucker	—	1,2	gr. Gummose.
5 %	„		2	„ „
10 %	„		4,1	„ „
20 %	„		5,5	„ „
30 %	„		6,5	„ „
40 %	„		2,4	„ „
50 %	„		0,6	„ „
60 %	„		0	„ „
Gesättigte Zuckerlösung		—	0	„ „

100,0 der mit dem Microc. gummos. geimpften Rohrzuckerlösung lieferten bei einem Gehalt von

2½ %	Rohrzucker	—	0,85	gr. Gummose.
5 %	„		1,6	„ „
10 %	„		3,8	„ „
20 %	„		4,8	„ „
30 %	„		4,2	„ „
40 %	„		2,7	„ „
50 %	„		1,4	„ „
60 %	„		0,5	„ „
Gesättigte Zuckerlösung		—	0	„ „

Aus vorstehenden Tabellen ergiebt sich, dass ein Rohrzuckergehalt bis zu 10 % bei beiden Microorga-

nismen am günstigsten für die Bildung der Gummose ist. Der Bac. gummos. liefert bei 2,5 % der Microc. gummos. bei 10 % Rohrzucker am meisten Gummose. Bei einem höheren Gehalte wurde derselbe durch die beiden Microorganismen nicht mehr vollständig in Schleim bezw. Gallerte umgewandelt. Bei einem Gehalt von 60 % wurde durch den Bac. gummos. überhaupt keine schleimige Gährung mehr hervorgerufen und folglich auch keine Gummose mehr gebildet, während dieses beim Microc. gummos. erst in ganz gesättigter Zuckerlösung der Fall war.

Die Gummose stellt frisch gefällt eine gelblichweisse, zähe, klebrige Masse dar, die sich in kaltem Wasser langsam, in kochendem Wasser schneller löst. Bei 100° getrocknet, bildet sie dem Gummi arabicum ähnliche, amorphe, durchsichtige Stücke von glasartiger, spröder Consistenz und hellgelber Farbe. Getrocknet ist die Gummose in Wasser ebenfalls vollständig löslich, jedoch bedeutend langsamer, als frisch gefällt, und zwar jetzt in kaltem Wasser leichter, als in kochendem. Die Lösungen der beiden Gummosen, die wie die Gummischleime stark opalisiren, drehen die Polarisationsebene nicht. Durch alkalische Kupfer- und Wismuthsalzlösungen werden dieselben nicht reducirt. Wie die negativ verlaufende Lassaigne's Probe ergab, sind die Gummosen stickstofffrei. In Natron- und Kalilauge sind sie selbst bei längerem Kochen nicht löslich, sie quellen nur stark darin auf. Salzsaures Phenylhydrazin giebt mit den beiden vorliegenden Gummosen keine Condensationsprodukte.

Beim Kochen mit verdünnten Säuren werden die Gummosen unter Bildung von Traubenzucker gespalten. Die Entstehung des letzteren liess sich durch die Rechtsabdrehung der Polarisationsebene, sowie durch die reduzirende Einwirkung auf alkalische Kupfer- und Wismuthsalzlösung konstatiren. Gleichermassen gaben

die so erhaltenen Lösungen mit salzsaurem Phenylhydrazin die charakteristischen Krystalle des Phenyldextrosazons, deren Schmelzpunkt als bei 204 ° liegend bestimmt wurde.

Nach allen besprochenen Eigenschaften war es im höchsten Grade wahrscheinlich, dass die vorliegenden Gummosen zu den Kohlenhydraten der Cellulose-Gruppe gehörten. Um über ihre chemische Zusammensetzung Klarheit zu gewinnen, wurden demnach die beiden Substanzen, nachdem sie wiederholten Reinigungsprozessen unterzogen waren, der Elementaranalyse unterworfen.

I. **Gummose** erhalten durch den Bac. gummos.

Ia. 0,116 gr. Substanz ergaben:
0,1896 gr. Kohlensäure und 0,0634 gr. Wasser.

Ib. 0,182 gr. Substanz ergaben:
0,2955 gr. Kohlensäure und 0,1014 gr. Wasser.

Für $C_6 H_{10} O_5$:

Berechnet:		Gefunden:		
		Ia.		Ib
C	44,44 %	C	44,6 %	44,3 %
H	6,17 %	H	6,07 %	6,19 %
O	49,39 %	O	49,33 %	49,51 %

II. **Gummose** erhalten durch den Microc. gummosus.

IIa. 0,163 gr. Substanz ergaben:
0,2656 gr. Kohlensäure und 0,089 gr. Wasser.

IIb. 0,171 gr. Substanz ergaben:
0,2776 gr. Kohlensäure und 0,0969 gr. Wasser.

Für $C_6 H_{10} O_5$:

Berechnet:		Gefunden:		
		Ia.		Ib.
C	44,44 %	C	44,45 %	44,28 %
H	6,17 %	H	6,07 %	6,3 %
O	49,39 %	O	49,48 %	49,42 %

Nachweis von Mannit-Bildung.

Es war früher des Oefteren die Bildung von Mannit bei der schleimigen Gährung beobachtet worden, und auch in diesen beiden Fällen gelang der Nachweis desselben. Sterile 10 % Rohrzuckerlösungen wurden ohne jeglichen anderen Zusatz mit Reinkulturen der beiden Microorganismen geimpft. Nachdem die schleimige Gährung vollständig beendigt war, wurde der evt. noch vorhandene Rohrzucker, der nicht verändert worden, durch Kochen mit verdünnter Salzsäure erst invertirt und dann durch Hefegährung vollständig entfernt. Das regelmässige Auftreten des Silberspiegels beim Kochen mit alkalischer Silberlösung bewies dann bei beiden schleimigen Flüssigkeiten die Anwesenheit von Mannit.

Nachweis von Kohlensäure-Bildung.

Dass sich Gase bei der schleimigen Gährung entwickeln, konnte schon aus Versuchen in der Schrötterschen Gas-Eprouvette leicht erkannt werden. Ferner wurden nun sterile 10 % Rohrzuckerlösungen ohne jeden Zusatz in Wulff'schen Flaschen mit Reinkulturen des Bac. gummos. und des Microc. gummos. geimpft, und diese Flaschen wieder mit anderen verbunden, in denen sich Kalkwasser befand. Es wurde peinlich dafür gesorgt, dass ausser dem Impfmaterial keine anderen Keime in die Zuckerlösungen hineingelangen konnten Es wurden nun zweimal täglich 20 Liter Luft, die vermittelst Durchleiten durch Schwefelsäure und Kalilauge völlig keim- und kohlensäurefrei gemacht waren, langsam durchgesogen, um die bei der Gährung gebildete Kohlensäure aus den Zuckerlösungen in das Kalkwasser hinüberzuleiten. Bei den Versuchen mit dem Bac. gummos entstand schon nach 24 Stunden Trübung bezw. Ausscheidung von kohlensaurem Kalk, beim Microc. gummos. dagegen trat dieselbe erst nach 2 Tagen, und bei den

meisten Versuchen lange nicht so stark auf, wie bei dem Bac. gummos. Die Menge der gebildeten Kohlensäure war bei diesen Gährungsversuchen eine verhältnissmässig sehr geringe, was sich dadurch erklären lässt, dass der meiste vorhandene Kohlenstoff zur Bildung der Gummose und der als Nebenprodukte entstehenden, organischen Säuren verbraucht wird.

Nachweis der Bildung von Milch- und Buttersäure.

Die Bildung von Säuren bei der schleimigen Gährung konnte schon dadurch erkannt werden, dass Zuckerlösungen, die mit schwach alkalischen Lösungen von Lacmus und Phenolphtalein gefärbt waren, die Farbe änderten bezw. sich entfärbten, sobald die Gährung eingetreten war.

Nach dem Ausfällen der Gummosen wurden die Flüssigkeiten mit Schwefelsäure angesäuert und dann mehrere Stunden lang der Destillation mit Wasserdämpfen unterworfen. Etwa vorhandene Buttersäure musste mit den Wasserdämpfen übergegangen sein und sich im Destillat befinden, zugleich mit kleinen Antheilen der schwer flüchtigen Milchsäure, deren Hauptmasse im Destillationskolben zurückgeblieben sein musste. Das erhaltene Destillat, welches einen eigenthümlichen, aromatischen Geruch nach Fruchtäther hatte und sauer reagirte, wurde mit Soda neutralisirt und zur Trockne eingedampft. Dabei wurden gelblich-weisse, krümelige Salzmassen erhalten, die sich in Wasser leicht lösten.

Die Milchsäure wurde nun dadurch nachgewiesen, dass der Abdampfrückstand zu wiederholten Malen mit absolutem Alkohol ausgezogen wurde. Aus der concentrirten, alkoholischen Lösung schied sich, was für milchsaures Natrium charakteristisch, auf Zusatz von Aether eine leicht zerfliessliche, amorphe Masse aus.

Ferner wurde die Milchsäure noch aus der bei

der Wasserdampf-Destillation zurückgebliebenen Flüssigkeit, die den grössten Theil derselben enthalten musste, folgendermassen nachgewiesen: Die mit Schwefelsäure angesäuerte Flüssigkeit wurde mit Soda neutralisirt und zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wurde darauf mit Alkohol ausgezogen, und das Filtrat mit Kalkmilch eingedampft. Dadurch wurde der noch etwa vorhandene Rohrzucker in Zuckerkalk und die Milchsäure in milchsauren Kalk umgewandelt. Letzterer, sowie noch event. vorhandenes milchsaures Natrium wurden aus dem Rückstand mit absolutem Alkohol ausgezogen und dann in der vorher besprochenen Weise mit Aether daraus als weissliche, amorphe, zerfliessliche Masse gefällt. Zucker konnte in dem alkoholischen Auszuge nicht mehr nachgewiesen werden, es musste mithin die in Alkohol lösliche, in Aether unlösliche Substanz milchsaurer Kalk bezw. milchsaures Natrium sein.

Bei der Untersuchung auf Buttersäure wurde das mit den Wasserdämpfen übergegangene Destillat mit Kalkwasser eben neutralisirt. Nach dem Eindampfen blieb eine zähe, stark hygroskopische, gelbweisse Masse zurück. Um in dieser die Gegenwart von Calciumbutyrat nachzuweisen, wurde die Eigenschaft des buttersauren Kalkes herangezogen, sich in kaltem Wasser in grösserem Masse zu lösen, als in heissem. In der That trübte sich der kalt gesättigte, wässerige Auszug des Abdampf-Rückstandes beim Erwärmen. Es schieden sich weissliche, in der Kälte wieder lösliche, Salzmassen aus, so dass die Anwesenheit des buttersauren Kalkes auf diese Weise ausser Frage gestellt war.

Zum weiteren Nachweis der Buttersäure, die immer nur in sehr geringer Menge bei den besprochenen Gährungsversuchen gebildet wurde, wurde das Destillat mit Chlorbaryum versetzt, erwärmt, filtrirt, zur Trocken

eingedampft und der Rückstand mit sehr wenig Alkohol aufgenommen. Nach dem Verdampfen des Alkohols blieb ein bedeutender Rückstand, der buttersaurer Baryt sein musste, da die Barytverbindungen anderer organischer Säuren, wie Essigsäure, Propionsäure, Ameisensäure etc. in absolutem Alkohol gar nicht, oder nur in äusserst geringem Grade löslich sind.

Essigsäurebildung, die von einzelnen Forschern bei der schleimigen Gährung beobachtet wurde, konnte bei der durch die beiden vorher beschriebenen Microorganismen veranlassten Gährung niemals nachgewiesen werden. Ebenso gelang es nicht, das Auftreten von Wasserstoff mit Bestimmtheit zu konstatiren.

Schlussbetrachtung.

Wie aus den im Anfange der Arbeit angeführten, litterarischen Aufzeichnungen zu ersehen ist, giebt es eine grosse Anzahl von Microorganismen, denen die Eigenschaft zukommt, zuckerhaltige Flüssigkeiten, Pflanzensäfte, Wein, Bier, Milch etc. in schleimige Gährung versetzen zu können. Mit allen diesen Microorganismen ist, soweit man aus den Literaturangaben ersehen kann, der im Vorhergehenden beschriebene Bac. gummos. nicht identisch, während der Microc. gummos. in seinen Wachsthumserscheinungen und sonstigen Eigenschaften zwar dem von Bräutigam beschriebenen „Microc. gelatinogenus" sehr ähnlich erscheint, jedoch durch den Verlauf und die Produkte der Gährung sich von diesem doch wesentlich unterscheidet. Eine Identität mit den von Pasteur, Béchamp und anderen älteren Forschern erwähnten Micrococcen konnte wegen der ungenügenden Beschreibung derselben nicht festgestellt werden.

Die Resultate der besprochenen bakteriologischen und chemischen Untersuchungen über die schleimige Gährung, wie sie durch die neu beschriebenen Microorganismen hervorgerufen wird, lassen sich in folgenden sechs Sätzen, als Antwort auf die bei Beginn der Arbeit gestellten Fragen, zusammenfassen:

1) Die schleimige Gährung wird veranlasst durch Microorganismen, da keimfreie Zuckerlösungen niemals schleimig wurden, und durch Ueberimpfung der beiden beschriebenen Bakterien auf sterile Zuckerlösungen stets Schleimbildung hervorgerufen wurde.

2) Die Anwesenheit von Rohrzucker ist unbedingt nöthig. Bei dem Microc. gummos. kann der Rohrzucker auch durch Malzzucker ersetzt werden. Das Optimum des Gehalts an Rohrzucker liegt bei 10 %. Lösungen anderer Zuckerarten werden nicht in schleimige Gährung durch die beiden Microorganismen versetzt.

3) Die schleimige Gährung wird durch Zusatz von Mineralstoffen befördert, jedoch ist deren Anwesenheit nicht unbedingt nothwendig, da Zuckerlösungen ohne jeglichen Zusatz ebenfalls schleimig wurden. Ebenso sind auch Eiweissstoffe, die von einzelnen Forschern zur Schleimbildung für erforderlich gehalten werden, dazu nicht nöthig.

4) Der Schleim scheint durch Zersetzung des Zuckers und nicht durch Quellung der Bakterienmembran zu entstehen, da eine derartige Veränderung durch die verschiedensten Färbemethoden und auf andere Weise niemals zu erkennen war.

5) Der Schleim besteht aus einer in Wasser löslichen, in Aether und Alkohol unlöslichen Gummose von der Zusammensetzung $(C_6 H_{10} O_5)_n$.

6) Als Nebenprodukte treten bei der schleimigen Gährung stets Mannit, Milchsäure, Buttersäure, Kohlensäure auf. Auch wird ein geringer Theil des Rohrzuckers in Traubenzucker verwandelt